Agrégation de Sciences de la Vie – Sciences de la Terre et de l'Univers

Concours externe 2006

Dimanche 11 Juin 2006

Travaux pratiques de contre-option a

Épreuve destinée aux candidats des secteurs B et C

Durée 2 h

Thème : Structures cellulaires et mouvements

Première partie : Étude de mouvements liés à la déformation de cellules végétales
I. Mouvements des stomates : (10 points)
II. Cellules bulliformes et mouvements d'enroulement de feuilles d'Oyat : (5 points)
Deuxième partie : Étude de cellules musculaires striées : (5 points)

Les réponses aux questions figureront dans les cadres réservés à cet effet, et, le cas échéant, au verso des feuilles (dans ce cas signalez-le avec une mention TSVP).
N'oubliez pas d'appeler les correcteurs pour vérifier préparations et dessins lorsque cela est demandé.

Matériel disponible :

matériel optique :
- microscope

matériel biologique :
- insecte dans l'alcool
- feuilles d'oyat dans l'alcool
- feuille de laitue

produits et colorants :
- bleu de méthylène
- rouge neutre
- hydrogénocarbonate de sodium
- lugol
- eau distillée
- solution de saccharose à 205,2 g/l

calculatrice et son mode d'emploi.

Première partie : Étude de mouvements liés à la déformation de cellules végétales

I. Mouvements des stomates

A. Influence du potentiel osmotique sur le degré d'ouverture des stomates

1 - Réaliser des préparations microscopiques de stomates. Ces préparations devront mettre en évidence des variations d'ouverture des stomates en fonction du potentiel osmotique du milieu de montage.

Conseils :

- ✔ *pour détacher l'épiderme, déchirer en biais un fragment de feuille de laitue.*
- ✔ *faire tremper complètement (la cuticule est imperméable) plusieurs fragments d'épiderme dans chacune des solutions, pendant un temps suffisant (au moins 15 minutes)*
- ✔ *soyez soigneux, mais aussi réalistes : le temps imparti ne permet pas de faire un travail précis. Le commentaire demandé vous permettra d'indiquer, avec concision, ce que vous auriez pu faire avec plus de temps ou un autre matériel.*

2 - Dans le cadre ci-dessous et sur la page suivante :

- ***décrire brièvement le protocole expérimental utilisé en précisant les précautions prises,***
- ***indiquer dans un tableau les quantités de produits mélangés pour faire les dilutions,***
- ***exprimer les résultats obtenus dans un tableau qui devra comporter l'indication du potentiel osmotique[1] des différentes solutions utilisées,***
- ***réaliser un dessin légendé d'une partie intéressante d'une de vos préparations,***
- ***indiquer, de manière synthétique, dans un tableau à 2 colonnes (problèmes et solutions) comment vous auriez pu améliorer le protocole utilisé.***

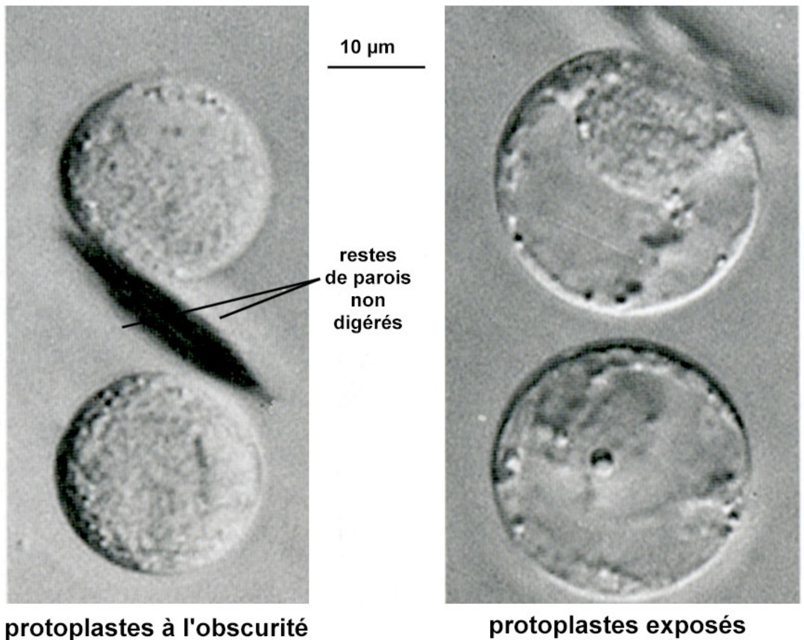
3 - Présenter vos préparations microscopiques à un examinateur, après avoir réglé le microscope au grossissement adéquat. Indiquer l'emplacement qui a été dessiné.

---

1 *le potentiel osmotique est donné par la relation :* $\psi_\pi = -i.Cs.R.T$
où ψ_π *est exprimé en mégapascals (MPa)*
R (constante des gaz parfaits) = $8{,}31.10^{-3}$ *kg.MPa.mol*$^{-1}$*.K*$^{-1}$
T (température absolue en K) = 273 + T en °C
Cs (molalité de la solution)
i est un coefficient qui tient compte de la dissociation du soluté (i = 1 s'il n'est pas dissocié)
i.Cs = osmolalité de la solution.

B. Quelque étapes du mécanisme d'ouverture des stomates

1 - Expérience réalisée sur des protoplastes de cellules de garde de stomates d'oignon. Des protoplastes sont conservés à l'obscurité dans une solution isotonique, puis photographiés au microscope à contraste de phase. D'autres protoplates provenant des mêmes cellules sont placés dans le même milieu, mais exposés à la lumière bleue (figure 1).



- ***Calculer le volume cellulaire des protoplastes dans les deux conditions.***
- ***Si les cellules avaient conservé leur paroi, quelle aurait été la variation relative du potentiel osmotique après exposition à la lumière bleue. (On supposera que le volume cellulaire n'aurait alors pas été modifié).***
- ***Comment relier cette variation de potentiel osmotique à l'ouverture des stomates ?***

Figure 1: protoplastes de cellules de garde de stomates.

2 - Mise en évidence d'une variation de pH

On suit la variation du contenu cytosolique en ions H^+ de cellules de garde de stomates exposés à une lumière bleue (figure 2).

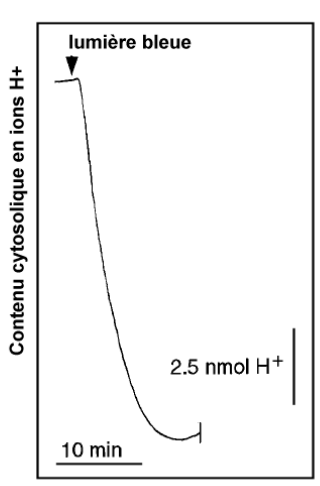


Figure 2: Variation du contenu cytosolique en ions H^+après exposition à la lumière bleue

- ***Dans quel sens le pH intracellulaire varie-t-il ?***
- ***Cette variation pourrait-elle directement expliquer la variation de potentiel osmotique mise en évidence à la question précédente ?***

La variation de pH est liée à l'activité d'une pompe membranaire ayant une activité d'ATPase liée au transport d'ions H^+. La figure 3 montre le résultat d'une étude de l'activité de cette ATPase (représentation de Lineweaver et Burk) lorsque la cellule stomatique est placée dans deux conditions : exposition continue à la lumière rouge (LR) ou après exposition continue à la lumière rouge (LR) et 30 s de lumière bleue supplémentaire (LB) 2,5 minutes avant les mesures.

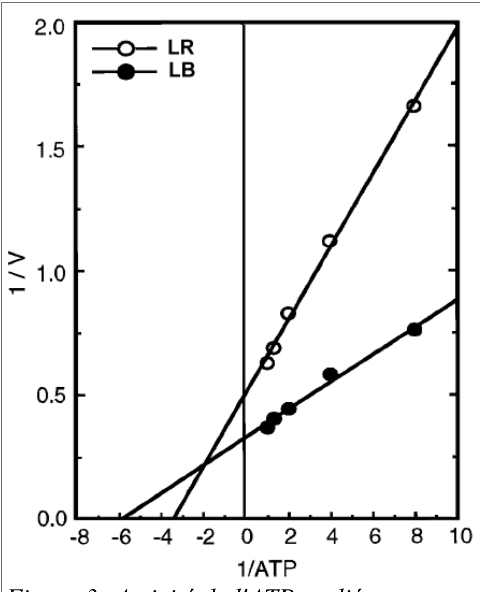


Figure 3: Activité de l'ATPase liée au transport des ions H^+
V : vitesse de la réaction en nMol/h/µg.
ATP : Concentration en ATP en mMol.

- ***À partir des données de ce graphique, estimer les valeurs de la constante de Michaelis Km et de la vitesse maximale de la réaction (Vm) dans les deux cas.***
- ***Montrer la cohérence de ces données avec celles de la figure 2.***

3 - Données complémentaires

La figure 4 montre l'ouverture des stomates et les variations de concentrations intracellulaires en K^+ et saccharose au cours d'une journée. On admettra que les variations de la concentration en ions K^+ sont déclenchées par les variations de pH étudiées dans la partie 2. La figure 5 montre les variations de l'ouverture des stomates dans différentes conditions d'éclairement.

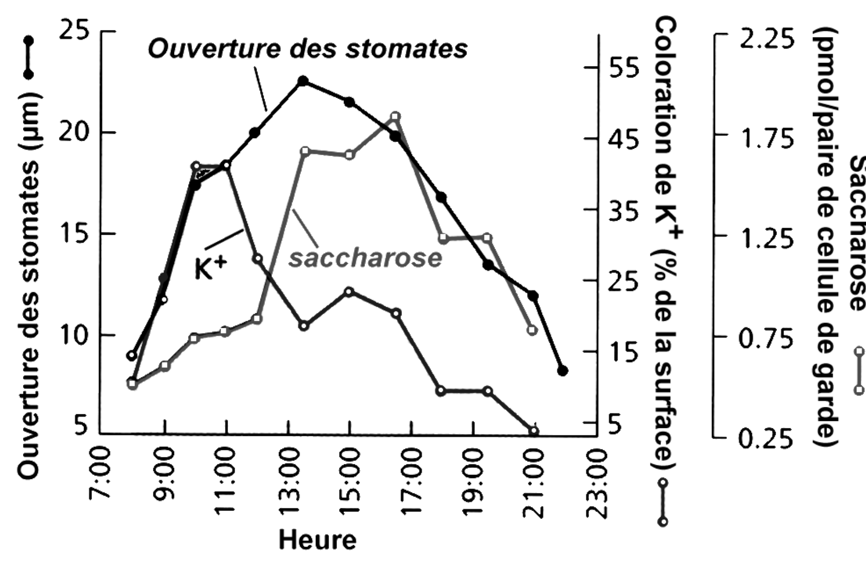


Figure 4: Variation de l'ouverture des stomates et des concentrations intracellulaires de K^+ et saccharose, dans les cellules de garde au cours d'une journée.

Figure 5: Variation du degré d'ouverture des stomates :
1 – en lumière rouge continue (4 h).
2 – en lumière rouge continue (4h) et addition de lumière bleue au bout de 2 h.

- ***En tenant compte de ces deux documents, indiquer, sous forme d'hypothèse, les différentes origines possibles du saccharose.***
- ***Donner alors une interprétation plausible des variations d'ouverture des stomates de la figure 5.***
- ***Faire un schéma de synthèse du mécanisme d'ouverture des stomates.***

II. Cellules bulliformes et mouvements d'enroulement des feuilles d'Oyat

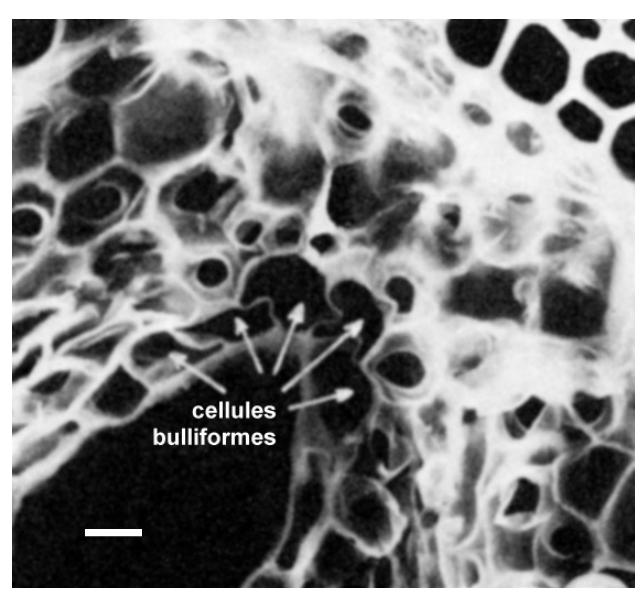


Figure 6: Détail d'une coupe transversale de feuille d'Oyat. Le trait d'échelle représente 50 µm

Chez l'Oyat, les feuilles peuvent s'enrouler sur elles-mêmes et délimiter une cavité cylindrique dans laquelle s'ouvrent les stomates. L'enroulement est dû à la déformation mécanique de cellules motrices, les cellules bulliformes, localisées au fond des sillons qui séparent les crêtes de la face supérieure de la feuille (fig. 6).

Les feuilles sont enroulées lorsque l'air est sec et déroulées lorsque l'humidité relative est élevée.

A. Réalisation d'une coupe fine colorée

1 - préparer une série de récipients contenant eau, eau de Javel (hypochlorite), acide acétique, carmin aluné, vert de méthyle (ou carmino-vert de Mirande) ;

2 - réaliser à main levée quelques coupes transversales à l'aide d'une lame de rasoir et en vous aidant d'un fragment de moelle de sureau ;

a - placer les coupes dans le verre de montre contenant l'eau de Javel au fur et à mesure de leur production ; les y laisser 10 min ;

a - repêcher les coupes ; les placer successivement dans l'acide acétique (1 min), le carmin aluné (10 min) puis le vert de méthyle (3 min) ; rincer à l'eau avant de placer entre lame et lamelle dans une goutte d'eau.

B. Recherche des cellules bulliformes dans la préparation

a - les centrer dans le champ du microscope ;

b - appeler un examinateur afin qu'il note la qualité de la préparation que vous présenterez à un grossissement approprié.

C. Mécanisme d'enroulement de la feuille

Donner, dans le cadre ci-dessous, une explication simple et vraisemblable du mécanisme d'enroulement de la feuille.

Deuxième partie : <u>Étude de cellules musculaires striées</u>

I. <u>Réalisation d'une préparation microscopique</u>

1 . Réaliser une préparation microscopique de cellules musculaires de l'insecte fourni. Ce montage sera coloré pour mettre en évidence le maximum de structures cellulaires, en particulier celles qui sont impliquées dans le mouvement.

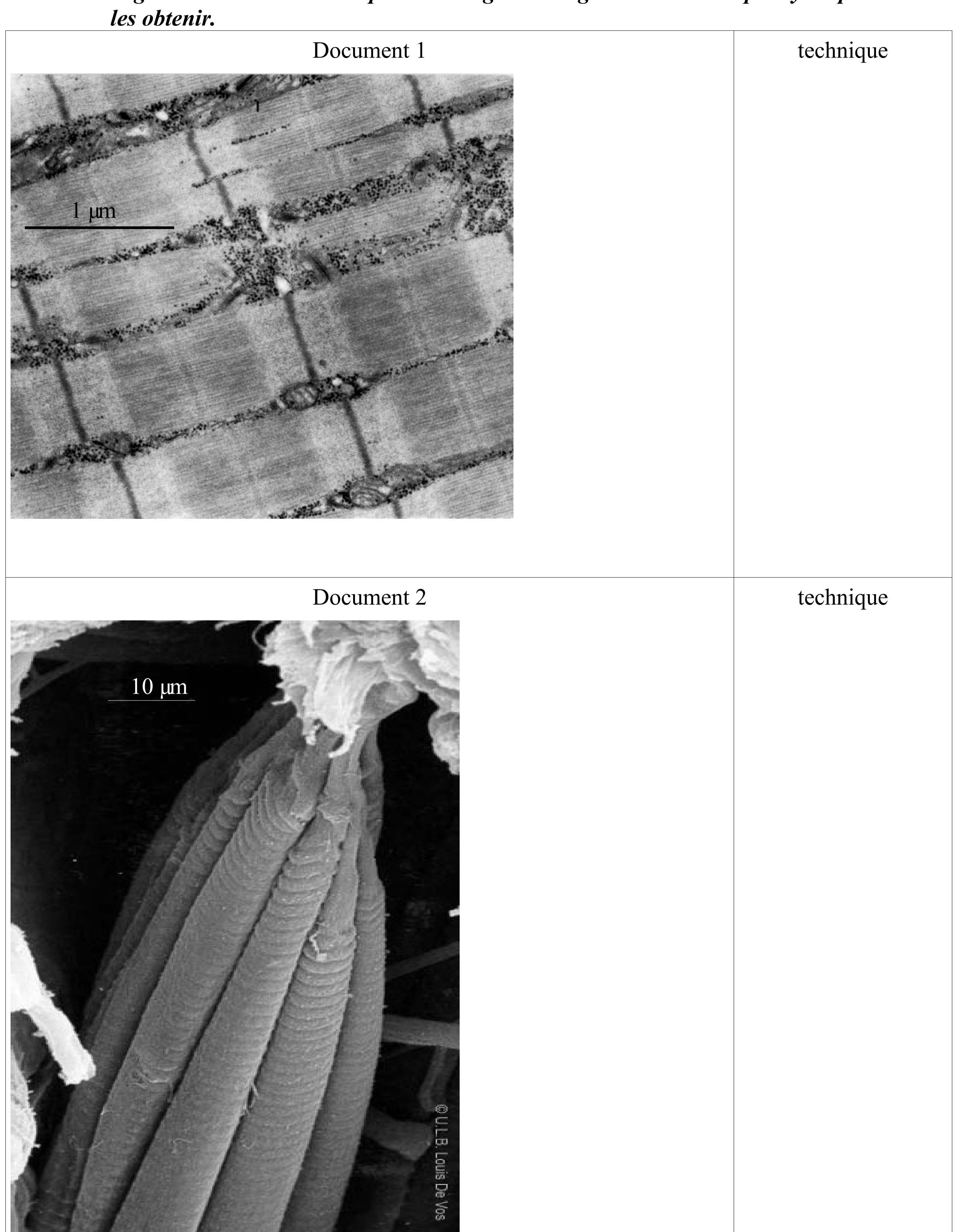
2 . Dans le cadre ci-dessous, réaliser un dessin légendé d'une partie intéressante de votre préparation.

3 . Présenter votre préparation microscopique à un examinateur, après avoir réglé le microscope au grossissement adéquat. Montrer l'emplacement qui a été dessiné.

II. Étude de documents

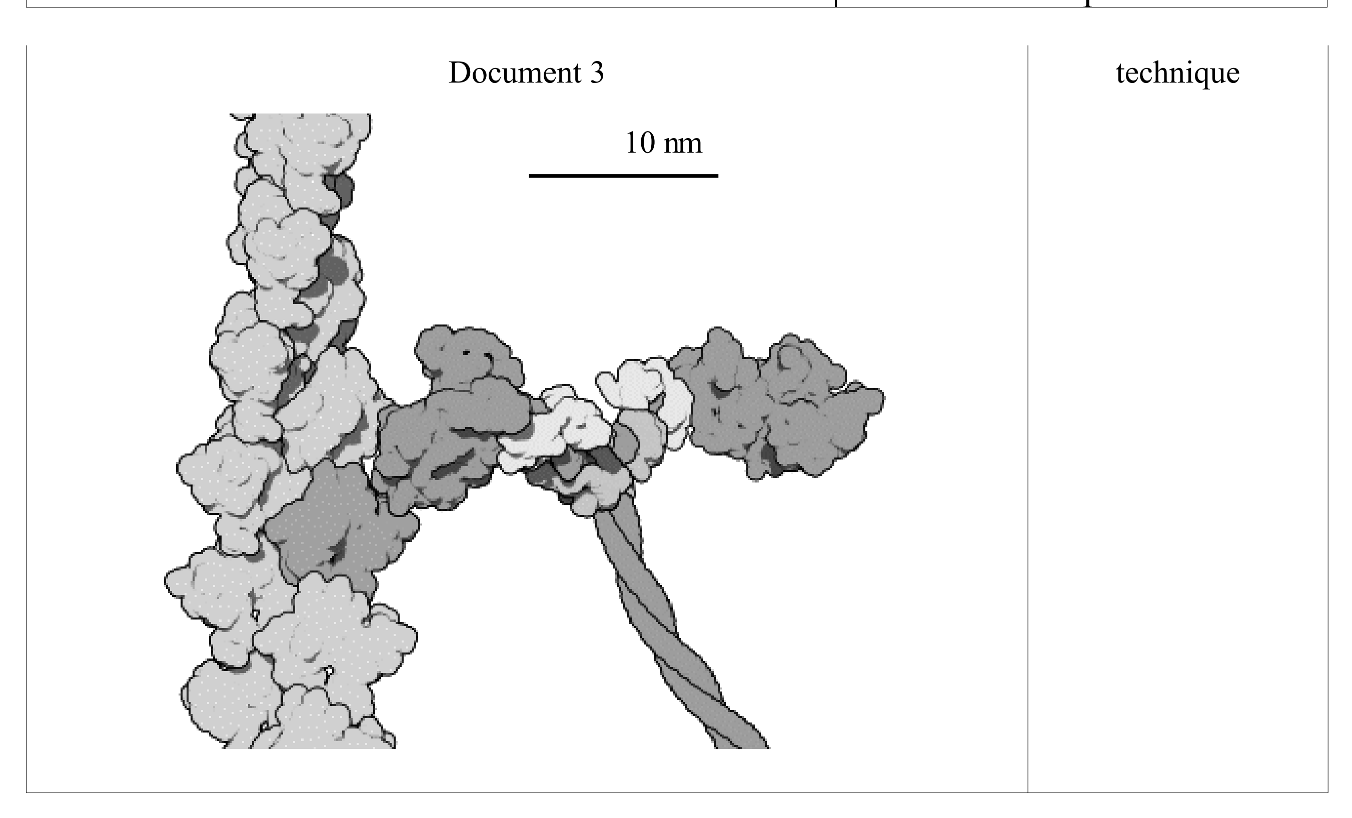
Les documents ci-dessous montrent quelques détails de cellules musculaires.

1 . Légender les documents et préciser les grandes lignes de la technique ayant permis de les obtenir.



Document 3

technique



2 . A l'aide de schémas réalisés dans le cadre ci-dessous, situer, les uns par rapport aux autres, les documents et le dessin de votre préparation microscopique.